

---

**Inflamación meníngea aguda no iatrogénica pos laminectomía en ratas.**

Artículo de Blanco, C. J.; Martín, E.; Sánchez, G.; Vidal Figueredo, R.; FERRARO, J.; Pellegrino, F.

CIENCIA VETERINARIA, Vol. 18, Nº 2, julio-diciembre 2016, ISSN 1515-1883 (impreso) E-ISSN 1853-8495 (en línea), pp. 27-32

DOI: <http://dx.doi.org/10.19137/cienvet-20161822>

# Inflamación meníngea aguda no iatrogénica pos laminectomía en ratas

*Blanco, C. J.<sup>1</sup>; Martín, E.<sup>1</sup>; Sánchez, G.<sup>1</sup>; Vidal Figueredo, R.<sup>1</sup>; FERRARO, J.<sup>1</sup>; Pellegrino, F.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup> Cátedra de Anatomía. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280 (1417) CABA Argentina.*

*Correspondencia: [cblanco@fvet.uba.ar](mailto:cblanco@fvet.uba.ar)*

---

## RESUMEN

La laminectomía en ratas es un procedimiento normalmente utilizado tanto en los diseños experimentales de funcionalidad medular como en aquellos de electrofisiología. También se ha utilizado a la rata como modelo experimental de lesiones compresivas y traumáticas de la médula espinal. Se realizaron laminectomías en ratas sanas anestesiadas y se cuantificó el grado de respuesta inflamatoria medular luego del abordaje, comparado con la respuesta en ratas no operadas, que fueron anestesiadas y fijadas de la misma manera. Se observó presencia de respuesta inflamatoria meníngea en los segmentos medulares expuestos y en aquellos ubicados craneal y caudalmente a la laminectomía.

**PALABRAS CLAVE:** laminectomía, meningitis aséptica, rata

## *Non Iatrogenic acute meningeal inflammation after laminectomy in rats*

## ABSTRACT

The laminectomy in rats is a procedure commonly used in both functionality experimental designs and in electrophysiology assays. Also, rats had been used as an experimental model of traumatic and compressive lesions of the spinal cord. Laminectomies

---

were performed in healthy rats anaesthetized and the degree of medullary inflammatory response was quantified after laminectomy and compared to non-operated rats which were anaesthetized and fixed in the same way. The acute meningeal inflammatory response in spinal segments exposed and those located cranially and caudally to the laminectomy was observed.

**KEYWORDS:** laminectomy, aseptic meningitis, rat

---

## *Introducción*

Los modelos animales proveen una oportunidad de probar las diferentes estrategias terapéuticas *in vivo* y son el primer paso en todos los ensayos clínicos antes de realizar las correspondientes pruebas en pacientes. Los modelos de respuesta a la lesión traumática de la médula espinal (LTME)<sup>2, 7, 13</sup> se han vuelto en nuestros días fundamentales en estos campos y se han mejorado lo suficiente como para mostrar una repetibilidad aceptable en lo que hace a los resultados clínicos y a las lesiones anatómicas y patológicas<sup>6</sup>.

El proceso de laminectomía es utilizado en casi todas las prácticas que impliquen un abordaje directo a la médula espinal. Varios de estos experimentos incluyen la lesión traumática de la médula pos laminectomía. En nuestro caso las laminectomías se realizaron en la región correspondiente a T<sub>9</sub> – T<sub>10</sub>.

Si bien varios autores mencionan la laminectomía como un abordaje no traumático a la médula espinal era necesario verificar, en nuestras condiciones de trabajo, las lesiones basales que pueden esperarse sobre la médula espinal luego de una laminectomía realizada de manera correcta y sin errores de técnica. Por el mismo motivo debían ser descartados además los posibles artefactos de técnica en las preparaciones histológicas de médula espinal en ratas.

## *Materiales y método*

Se trabajó sobre un grupo de 15 ratas Sprague-Dawley machos con un peso medio de 270g (60 días de edad). Se anestesiaron con Ketamina y Xylazina (100 mg/kg y 10 mg/kg respectivamente) vía intraperitoneal. Se posicionaron sobre una

---

plataforma de acero que permitió mantener fijos los animales luego de realizada la tricotomía y desinfección del área cutánea dorsal. Se realizó una incisión longitudinal de la piel y se separaron por divulsión roma los músculos epiaxiales. La laminectomía se realizó sobre las vértebras  $T_9 - T_{10}$  exponiendo la médula espinal dentro de la envoltura dural<sup>9, 10, 11</sup>. La zona se irrigó con solución salina estéril como única maniobra y se procedió al cierre de la laminectomía. Las capas incididas se suturaron en dos planos. El primero, músculo-aponeurótico conformado por la masa muscular epiaxial, y el segundo por la piel.

Los animales fueron sacrificados en 2 grupos: inmediatamente luego de la laminectomía, y 3 horas después de la cirugía. En los casos en que los animales permanecieron vivos 3 horas luego de la laminectomía el dolor se controló mediante la aplicación IP de tramadol en una dosis aproximada de 4 mg/kg<sup>1</sup> o de buprenorfina en dosis de 0,1 mg/kg SC<sup>14</sup>. La eutanasia se realizó por anestesia profunda con Ketamina y Xylazina seguida de la perfusión transcárdica de formaldehído al 10% en buffer fosfato a pH 7. Un grupo de 10 animales control fue anestesiado y eutanasiado de la misma manera sin realizar ningún tipo de cirugía.

Se extrajo un segmento de médula espinal tomando aproximadamente un centímetro por craneal y por caudal de la zona laminectomizada. Se fijaron las piezas en la misma solución de perfusión durante 24 - 48 horas a 4°C. Luego se procesaron para microscopia óptica mediante la inclusión en parafina y posterior corte en micrótopo de deslizamiento. Se realizaron tinciones con hematoxilina-eosina y Nissl. Las observaciones se realizaron en un microscopio Zeiss de luz transmitida.

La presencia de lesiones a nivel neuronal fue codificada de manera dicotómica (presencia y ausencia) y el grado de respuesta inflamatoria en fuerte, moderado y ausente. En todos los casos, cuando las frecuencias registradas lo permitieron las comparaciones se realizaron bajo una prueba de  $\chi^2$  de acuerdo a Conover, 1999. Todos los procedimientos realizados en animales fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética y Cuidados de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV - UBA.

---

## *Resultados*

En los cortes de médula espinal provenientes de ratas no operadas, solamente se observó una leve retracción del tejido nervioso y desprendimientos esporádicos de la piamadre. En los cortes de los animales eutanasiados inmediatamente después de la laminectomía, no se observaron cambios significativos con respecto a las ratas no operadas, presentándose las vistas de la médula espinal casi en las mismas condiciones. En cambio, en los cortes obtenidos a partir de animales que se mantuvieron 3 horas luego de la laminectomía se pudo observar una fuerte reacción infiltrativa en el espacio subdural, con abundantes neutrófilos y células mononucleares (macrófagos) (diferencias significativas con  $p < 0,0001$ ). El segmento de la piamadre correspondiente al área expuesta se encontró desprendido en toda su extensión prolongándose la reacción inflamatoria al espacio subaracnoideo circundante. A la inspección visual, no se encontraron diferencias significativas (la significación se declaró sin mediar prueba estadística porque en este caso las frecuencias de presentación fueron nulas) en la cantidad de cuerpos neuronales presentes en la sustancia gris del asta dorsal, signo que ha sido habitualmente descrito en los casos de lesiones medulares traumáticas experimentales en la rata<sup>5</sup>.

## *Discusión*

Las lesiones inflamatorias observadas posteriormente a la laminectomía serían coincidentes con un proceso agudo, que resulta posiblemente de la exposición de la duramadre, y podría ser desencadenado por el solo hecho de retirar el arco vertebral, lo que generaría una lesión mecánica sobre la médula espinal. Las maniobras de sutura y la misma reacción del tejido conectivo circundante podrían extenderse al espacio epidural medular.

La conservación de la cantidad de neuronas en la sustancia gris del asta dorsal luego de la laminectomía indicaría que los procesos apoptóticos que ocurren posteriormente a los traumatismos medulares requieren de un nivel más profundo de lesión. Es posible pensar que no existe relación entre esta inflamación aguda pos laminectomía y la respuesta medular a la lesión traumática, cuyo principal mecanismo sería la cascada de eventos bioquímicos que suceden en forma secundaria a la

---

isquemia provocada por el aumento de presión intramedular y al daño hemorrágico. La lesión secundaria es la responsable de las graves consecuencias que aparecen luego de las lesiones medulares traumáticas<sup>2</sup>.

## **Conclusiones**

Si bien no pareciera existir un daño medular considerable como consecuencia inmediata de la laminectomía, es posible observar una respuesta inflamatoria aguda meníngea subdural caracterizada por la presencia de neutrófilos y macrófagos.

No hemos observado ningún tipo de maniobras o procesos en las cirugías realizadas que pudiesen considerarse iatrogénicos, por lo que se puede afirmar que la respuesta inflamatoria meníngea pos laminectomía se trata de una lesión basal inevitable, y que debe tomarse en cuenta para cualquier estudio que involucre este tipo de cirugía como modelo experimental de lesiones medulares traumáticas agudas en ratas.

## **Bibliografía**

1. Bianchi, M., Panerai, A.E. Anti-hyperalgesic effects of tramadol in the rat. *Brain Research*, 2008, **797**, 163-166.
2. Borgens, R.B., Shi, R. Immediate recovery from spinal cord injury through molecular repair of nerve membranes with polyethylene glycol. *FASEB Journal*, 2000, **14**.
3. Conover, W.J.(1999) *Practical Nonparametric Statistics* (3rd Edition), Wiley.
4. De Haro J., Zurita M., Vaquero J. Estudio gammagráfico de la distribución de células del estroma de la medula ósea tras su administración intravenosa o intralesional en un modelo experimental de paraplejía traumática. *MAPFRE MEDICINA*, 2007 **18**(2):91-97.
5. Liu, X.Z., Xu, X.M., Hu, R., Du, C., Zhang, S.H., McDonald, J.W., Dong, H.X., Wu, Y.J., Fan, G.S., Jacquin, M.F., Hsu, C.Y., Choi, D.W. Neuronal and Glial Apoptosis after Traumatic Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience*, 1997, **17**(14):5395-5406.
6. Marques, S.A., Ferreira Garcez, V., Del Bel, E.A., Blanco Martinez, A.M. A simple, inexpensive and easily reproducible model of spinal cord injury in mice: Morphological and functional assessment. *Journal of Neuroscience Methods*, 2009, **177**:183-193.

- 
7. McDonald, J.W., Liu, X.Z., Qu, Y., Liu, S., Mickey, S.K., Turetsky, D., Gottlieb, D.I., Choi, D. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nature Medicine*, 1999, **5**, (12).
  8. Onifer, S.M., Rabchevsky, A.G., Scheff, S.W. Rat Models of Traumatic Spinal Cord Injury to Assess Motor Recovery. *ILAR Journal*, 2007, **48**, (4):385-395.
  9. Poon, P.c., Gupta, D., Shoichet, M.S., Tator, C.H. Clip Compression Model Is Useful for Thoracic Spinal Cord Injuries. Histologic and Functional Correlates. *Spine*, 2007, **32**(25):2853-2859.
  10. Rodrigues, N.R., Letaif, O.B., Cristante, A.F., Marcon, R.M., Oliveira, R.P., Pessoa de Barros Filho, T.E. Standardization of Spinal Cord Injury in Wistar Rats. *Acta Ortop Bras*; 2010, **18**(4):182-6.
  11. Roussos, I., Rodríguez, M., Villán, D., Ariza, A., Rodríguez, L., García, J. Development of a Rat Model of Spinal Cord Injury and Cellular Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2005, **37**:4127-4130.
  12. Schwartz, E.D., Timothy Himes, B. New Model of Minimally Invasive Experimental Spinal Cord Injury. *American Journal of Neuroradiology*, 2003, **24** (2) 166-168.
  13. Talac, R., Friedman, J.A., Moore, J.A., Lu, J.A., Jabbari, J.A., Windebank, J.A., Currier, J.A., Yaszemski, J.A. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies. *Biomaterials*, 2004, **25**:1505-1510.
  14. Vaquero, J., Zurita, M., Oya, S., Santos, M. Cell therapy using bone marrow stromal cells in chronic paraplegic rats: Systemic or local administration? *Neuroscience Letters*, 2006, **398**:129-134.